

SACCHARIFICATION OF STARCH

Publication number: JP59179093

Publication date: 1984-10-11

Inventor: UEDA SEINOSUKE; KOBAYASHI YUJIROU

Applicant: KYOWA HAKKO KOGYO KK

Classification:

- international: **C12G3/02; C12P19/20; C12G3/02; C12P19/00; (IPC1-7): C12G3/02; C12P19/20**

- european:

Application number: JP19830053198 19830329

Priority number(s): JP19830053198 19830329

Report a data error here

Abstract of JP59179093

PURPOSE: Saccharification of starch is carried out by adding glycoamylase as well as acidic protease to increase the alcohol yield in the alcohol fermentation. **CONSTITUTION:** A starch resource such as wheat, barley, oats, rye, rice, corn, sweet potatoes, cassava or their processed products is combined with an appropriate amount water and steamed. Then, glucoamylase and acidic protease are added to the product to effect saccharification at 30-50 deg.C for 50-200hr. Both of glucoamylase and acidic protease originate from microorganisms such as rhizopus or aspergillus and the amount of the former is 20-200 units per 1g. of the starch, while that of the latter is 100-400 units. A yeast is inoculated, after the saccharification, to effect alcohol fermentation, resulting in increase of alcohol yield.

.....
Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭59—179093

⑪ Int. Cl.³
C 12 P 19/20
// C 12 G 3/02

識別記号

1 2 0

庁内整理番号

7258—4 B

6904—4 B

⑬ 公開 昭和59年(1984)10月11日

発明の数 2
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑭ 澱粉の糖化法

⑮ 特 願 昭58—53198

⑯ 出 願 昭58(1983) 3 月29日

特許法第30条第1項適用 昭和58年 3 月10日

発行社団法人日本農芸学会の講演要旨集

(昭和58年度大会) に発表

⑰ 発 明 者 上田誠之助

福岡市南区大字屋形原396—51

⑱ 発 明 者 木場洋次郎

福岡市東区筥松3—8—33

⑲ 出 願 人 協和醸酵工業株式会社

東京都千代田区大手町1丁目6

番1号

明 細 書

1. 発明の名称

澱粉の糖化法

2. 特許請求の範囲

- (1) 澱粉質原料にグルコアミラーゼおよび酸性プロテアーゼを添加して澱粉を糖化することを特徴とする澱粉の糖化法。
- (2) 澱粉質原料が、小麦、大麦、エン麦、ライ麦、米、とうもろこし、甘藷およびキャッサバ、またはその処理物から選ばれることを特徴とする特許請求の範囲第1項記載の方法。
- (3) 澱粉質原料に、グルコアミラーゼおよび酸性プロテアーゼを作用させて澱粉を糖化し、これを原料としてアルコール発酵を行わせることを特徴とする無蒸餾アルコール発酵法。
- (4) 澱粉質原料が、小麦、大麦、エン麦、ライ麦、米、とうもろこし、甘藷およびキャッサバ、またはその処理物から選ばれることを特徴とする特許請求の範囲第3項記載の方法。

3. 発明の詳細な説明

本発明は、新規な澱粉の糖化法ならびに、糖化法を利用する無蒸餾アルコール発酵法に関する。従来、無蒸餾アルコール発酵法においては、

アミラーゼたとえばα-アミラーゼ〔澱粉科学、21(3)、210~221(1974)〕、グルコアミラーゼ〔特開昭57-102189、同57-186494〕を用いて澱粉を糖化し、アルコール発酵させる方法が知られている。

本発明者らは、効率のよい無蒸餾アルコール発酵法について検討を重ねた結果、グルコアミラーゼにさらに酸性プロテアーゼを加えると、糖化の効率が向上し、アルコール発酵におけるアルコールの収率が顕著に向上することを見出し本発明を完成するに至った。

以下本発明について詳細に説明する。

本発明は、澱粉質原料にグルコアミラーゼおよび酸性プロテアーゼを添加して澱粉を糖化する方法を提供する。

澱粉質原料としては、小麦、大麦、エン麦、ライ麦、米などの穀類澱粉、とうもろこし澱粉、甘藷澱粉、キャッサバ澱粉などがあげられる。澱粉質原料としては、これら原料を粉砕し、篩を通過させた粉末あるいは、これより公知のアルカリ抽出方法で抽出した澱粉を用いることもできる。アルカリ処理は、澱粉に3~7倍量の0.2% NaOHを加え、攪拌後、冷却、静置、遠心分離し、上清を除去し、再びNaOH処理を繰返す。この操作

を3~7回繰返し、中性になるまで蒸留水で洗浄し、真空乾燥したものをアルカリ処理精製澱粉として用いる。

グルコアミラーゼとしては、リゾブス属、アスペルギルス属などの微生物が生産するグルコアミラーゼが好適に用いられる。グルコアミラーゼの使用量は、澱粉質原料の種類により異なるが、一般に澱粉質原料1gに対し20~200単位を用いる。

グルコアミラーゼ活性は、可溶性澱粉を基質として、pH4.5、40℃で10分間に反応液1ml当り、1mgのグルコースを生成し得る酵素量を1グルコアミラーゼ単位(AU)とする。

酸性プロテアーゼとしては、リゾブス属、アスペルギルス属などの微生物が生産する酸性プロテアーゼが好適に用いられる。酸性プロテアーゼの使用量は、澱粉質原料、グルコアミラーゼの量などによって異なるが、一般に澱粉質原料1gに対して100~400単位、グルコアミラーゼ1単位に対して1~20単位の割合で加えればよい。

プロテアーゼ活性は、ミルクカゼインを基質として、pH3.0、40℃で、60分間に反応液1ml当り、100γのチロシンを生成し得る酵素量を1プロテアーゼ単位(PU)とする。

ゼ(生化学工業社製、リゾブス属菌由来)1.9AU(プロテアーゼ活性を含まない)、精製酸性プロテアーゼ(Agr. Biol. Chem., 31, 710 (1967)記載の方法で精製したもの、リゾブス属菌由来)16.4PU(グルコアミラーゼ活性を含まない)およびチモール(防腐剤として)少量を混合し、38℃で100時間反応させた。DNS法(J. Biol. Chem., 47, 5 (1921))で還元糖を定量することにより糖化度を調べた。対照として、酸性プロテアーゼまたはグルコアミラーゼをそれぞれ含まない系および小麦澱粉を0.2%NaOHで処理したものを同様に処理して糖化度を調べた。結果を第1図に示す。

第1図中Aはグルコアミラーゼと酸性プロテアーゼを併用、Bはグルコアミラーゼのみを使用、Cは酸性プロテアーゼのみを使用、三角印は、0.2%NaOH処理小麦澱粉使用、丸印はNaOH無処理小麦澱粉使用の実験結果を示す。

第1図から、酸性プロテアーゼ添加により、澱粉の糖化が著しく促進されることがわかる。

実施例2.

小麦粉末のグルコアミラーゼと酸性プロテアーゼ添加によるアルコール発酵:

小麦粉末(あまぎ2条佐賀種を粉砕機(ウィル

糖化方法は、澱粉原料を酢酸緩衝液に溶かし、グルコアミラーゼと酸性プロテアーゼを加えて、30~40℃で50~200時間処理することにより行う。

本発明は、上記で得られる糖化物を用いる無蒸気アルコール発酵法をも提供する。

アルコール発酵法は、通常の回分式または連続式発酵方法に従って行う。

発酵には、市販の圧搾パン酵母、アルコール酵母(Saccharomyces cerevisiae)などを用いればよい。発酵は、pH3~5、温度25~35℃で行う。pHの調整は、リン酸、クエン酸、塩酸などで行うが、リン酸が好ましい。

アルコールの生成は、例えば、アルコールハンドブック(発酵工業協会編、昭和53年4月15日第5版)128頁に記載の方法に準じて分析すればよく、生成アルコール量は、炭酸ガスの減量により推定することができる。

以下に本発明の実施例を示す。

実施例1.

小麦澱粉のグルコアミラーゼと酸性プロテアーゼによる糖化:

小麦澱粉(片山化学社製)100mg、0.1M酢酸緩衝液(pH4.5)8ml、精製グルコアミラー

ゼ(cutting mill)を用いて粉砕し、20メッシュの篩を通過した粉末)30g、グルコアミラーゼ剤(天野製薬社製"GR-2", リゾブス属菌由来)18または36AU、酸性プロテアーゼ剤(天野製薬社製"ニューラーゼG", リゾブス属菌由来)0または38PU、圧搾酵母(オリエンタル酵母工業社製)3g、メタ重亜硫酸カリウム0.05g(防腐剤として)、水道水80mlを混合し、10%リン酸でpH4.5に調整し、38℃で5日間振盪(往復振盪100~110回/分)下発酵させ、24時間毎にCO₂の発生による重量の減少を秤量によって求め、エタノール量に換算した。

結果を第2図に示す。図中、Dはグルコアミラーゼ(●18AU, ▲36AU)と酸性プロテアーゼ(38PU)併用、Eはグルコアミラーゼ(○18AU, △36AU)のみを用いる、Fは酵素剤無添加を示す。

第2図から、酸性プロテアーゼ添加がアルコール発酵にも著効を示すことがわかる。

実施例3.

小麦澱粉のアルコール発酵:

小麦澱粉(0.2%NaOHで1回処理したもの)10g、酵素剤、水道水50ml、圧搾酵母2g、

メタ亜硫酸カリウム0.025gを混合し、10%リン酸でpH4.5に調整し、38℃で6日間振盪（往復振盪100～110回/分）下発酵させ、実施例2と同様にエタノール量求めた。

使用酵素は下記の組成を有する。

第 1 表			
活 性	G	H	I
グルコアミラーゼ (AU)	41.9	51.0	45.6
酸性プロテアーゼ (PU)	72.8	16.9	—
α-アミラーゼ (LAU [※])	1425	1411	—

※ α-アミラーゼ活性は、ばれいしょ澱粉を基質として、pH4.5、40℃で10分間反応し、Blue Value法 (J.Biochem., 41, 583 (1954)) で求めた。1 α-アミラーゼ単位 (LAU) は、1%澱粉糊液10mlのBlue Valueを40℃で1分間に1%低下させる酵素量とした。

結果を第3図に示す。図中、G、H、Iは上記第1表中の酵素組成での試験を示す。

この結果、精製グルコアミラーゼのみ (I) では、アルコール発酵の増加はほとんど見られないこと、GとHの比較により、酸性プロテアーゼがアルコール発酵に寄与していることがわかる。

酸性プロテアーゼ (4.9単位) を併用、Qはグルコアミラーゼ (2.4単位) のみを使用、Rは酸性プロテアーゼ (4.9単位) のみを使用した場合を示す。

4. 図面の簡単な説明

第1図は、実施例1における小麦澱粉糖化の経時変化を示す。図中Aはグルコアミラーゼと酸性プロテアーゼ併用、Bはグルコアミラーゼのみ、Cは酸性プロテアーゼのみの使用を示し、三角印は0.2%NaOH処理澱粉使用、丸印はNaOH無処理澱粉使用の例を示す。

第2図は、実施例2における大麦粉末を用いるアルコール発酵の経時変化を示す。図中Dはグルコアミラーゼ (●18AU, ▲36AU) と酸性プロテアーゼ (38PU) 併用、Eはグルコアミラーゼ (○18AU, △36AU) のみを使用、Fは酵素剤無添加を示す。

第3図は、実施例3における小麦粉末を用いるアルコール発酵の経時変化を示す。図中G、H、Iは、実施例3に示した酵素組成の実施例を示す。

第4図は、とうもろこし澱粉を用いたときの糖化の経時変化を示す。

第5図は、米澱粉を用いたときの糖化の経時変化を示す。

実施例4.

小麦澱粉に替えて、とうもろこし澱粉 (片山化学社製) 25mg、キャッサバ澱粉 50mg、甘藷澱粉 (片山化学社製) 50mg、米澱粉 (澱粉科学, 20, 99 (1973) の方法により調製) 25mgを用い、酸性プロテアーゼとしては、ニューラーゼGを Agr. Biol. Chem. 31, 710 (1967) の方法により精製したもの (1mg当り0.08単位のグルコアミラーゼを含む) を用いる以外は実施例1と同様に行って、これら澱粉の糖化度を調べた。結果を第4～6図に示す。

第4図はとうもろこし澱粉の使用例を示し、図中Jはグルコアミラーゼ (0.5単位) と酸性プロテアーゼ (4.1単位) を併用、Kはグルコアミラーゼ (0.5単位) のみを使用、Lは酸性プロテアーゼ (4.1単位) のみを使用した場合を示す。

第5図は米澱粉の使用例を示し、図中Mはグルコアミラーゼ (0.5単位) と酸性プロテアーゼ (4.1単位) を併用、Nはグルコアミラーゼ (0.5単位) のみを使用、Oは酸性プロテアーゼ (4.1単位) のみを使用した場合を示す。

第6図はキャッサバ澱粉および甘藷澱粉の使用例を示し、図中丸印はキャッサバ澱粉、三角印は甘藷澱粉、Pはグルコアミラーゼ (3.0単位) と

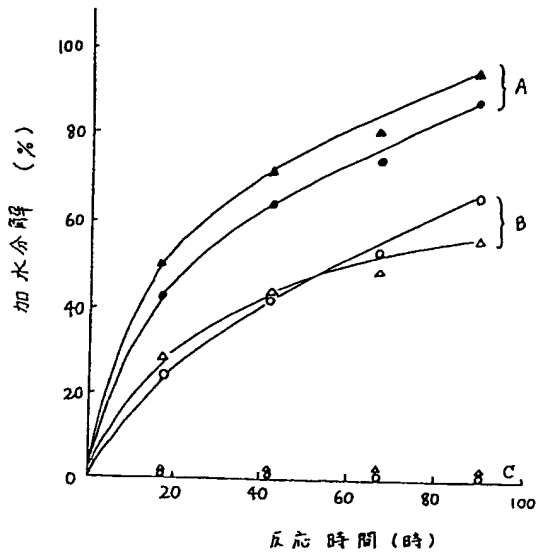
第6図は、キャッサバ澱粉および甘藷澱粉の糖化の経時変化を示す。

特許出願人 (102) 協和発酵工業株式会社

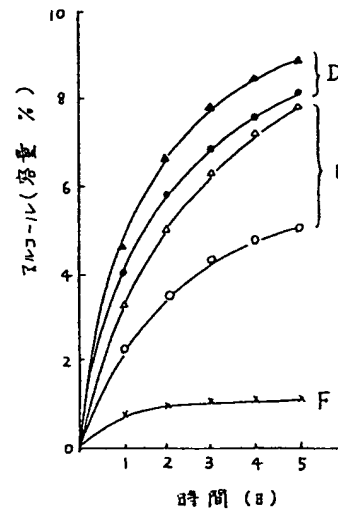
代表者 木下 悦郎



第 1 図

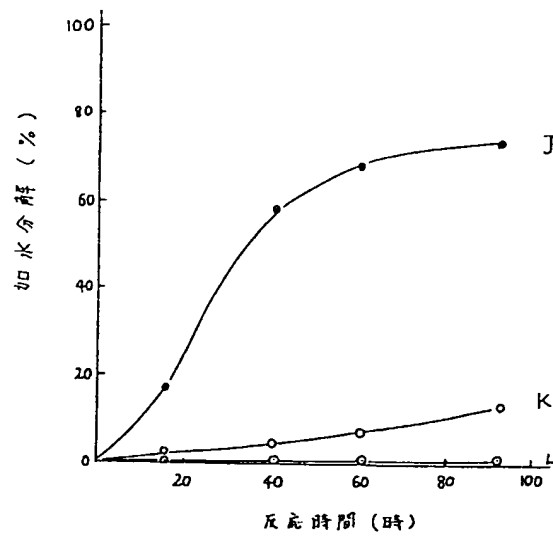
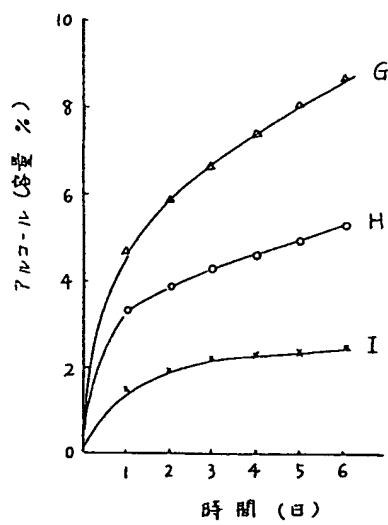


第 2 図

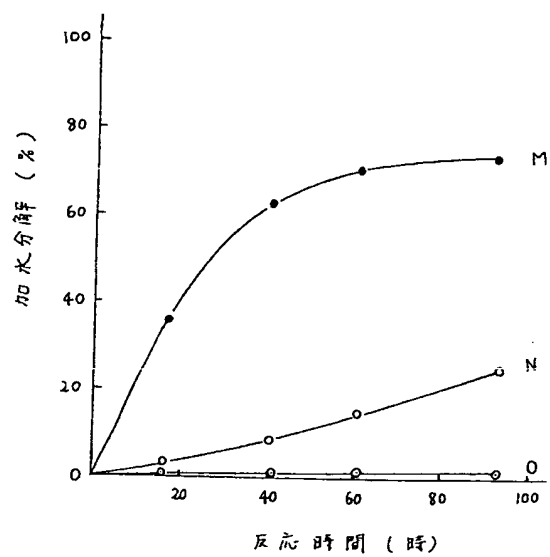


第 4 図

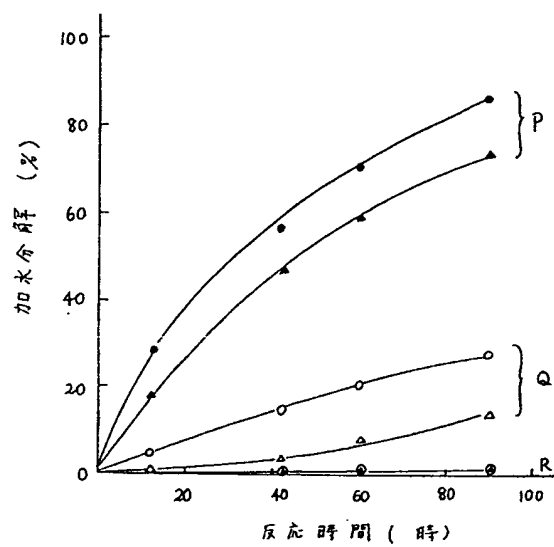
第 3 図



第 5 回



第 6 回



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.

THIS PAGE BLANK (USPTO)